

火麻仁对糖尿病小鼠模型的治疗机制研究

廖文娟

湖北中医药高等专科学校 湖北荆州 434020

【摘要】目的 研究火麻仁对糖尿病小鼠的治疗作用, 并且探讨其可能机制。**方法** 用火麻仁醇提物对糖尿病模型小鼠进行实验, 设正常对照组、模型组、火麻仁大、中、小三个剂量药物处理组, 连续给药 20 天后, 检测各实验组抗氧化酶 SOD 及 GSH-Px 的活性, NO 及 MDA 含量。**结果** 给药结束后, 三个剂量药物处理组血糖均有降低 ($p<0.05$, vs 模型组); 血清内抗氧化酶 SOD、GSH-Px 的活性降低, NO 含量降低、MDA 含量增加 ($p<0.05$, vs 正常对照组), 给予火麻仁可使小鼠血清内的 SOD、GSH-Px 的活性升高和 NO 含量增加、MDA 含量减少 ($p<0.05$, vs 模型组)。**结论** 火麻仁可有效降低糖尿病小鼠血糖, 机制可能与其增强抗氧化酶活性, 抗氧化应激有关。

【关键词】 火麻仁; 糖尿病; 机制

【中图分类号】 R587

【文献标识码】 A

【文章编号】 1002-3763 (2022) 08-026-03

【基金项目】 项目来源: 湖北省教育厅科学研究计划指导性项目, 项目名称: 火麻仁对糖尿病小鼠模型的治疗机制研究 (项目编号: B2015184)

The Mechanism of Semen Cannabis in Diabetic mouse

Liaowenjuan

Hubei college of Chinese medicine

【Abstract】Objective To investigate the protection of Semen Cannabis on the diabetic mouse model and its possible mechanisms. And provide theoretical and experimental basis to further study the mechanism of DM. **Methods** All mouse were randomly divided into five groups: Control group, model group, low-dose Semen Cannabis extract group, middle-dose Semen Cannabis extract group, high-dose Semen Cannabis extract group, establishment of diabetic model except control group. Serum fasting blood glucose, SOD, GSH-Px, NO and MDA were measured by a colorimetric method after 20 days. **Results** After administrating Semen Cannabis extract for 20 days, the level of Serum fasting blood glucose decreased compared with the model group ($P<0.05$). activities of SOD, GSH-Px and NO were remarkably increased while MDA was decreased compared with the model group ($P<0.05$). **Conclusion** The Semen Cannabis extract have hypoglycemic effect in diabetic mouse, the mechanism may be associated with increasing the activity of antioxidant enzymes and anti-oxidative stress.

【Key words】 Semen Cannabis diabetic mouse mechanism

糖尿病 (DM) 是以高血糖为特征的全面代谢紊乱性疾病, 近年来发病率呈逐年上升并年轻化的趋势, 成为威胁人类健康的主要慢性疾病之一。对于严重糖尿病患者, 需要终身治疗, 而降糖药长期使用会失效^[1]。由此, 寻找防治糖尿病相关的新药具有重要意义。火麻仁 (Semen Cannabis) 系桑科一年生草本植物大麻的干燥成熟果实或成熟去壳的种子^[2], 具润肠通便、滋阴补虚的功效, 常用于老人虚性便秘。近年研究发现, 火麻仁有较好的降血压、利尿、镇痛的作用^[3,4], 此外还具有降脂及抗动脉粥样硬化作用^[5,6]。但火麻仁是否具有降低血糖作用, 且其机制如何, 目前国内外尚未见相关报道。为此, 本研究通过糖尿病小鼠模型的建立, 探讨其降血糖作用及可能的降血糖机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

昆明种小鼠, 20 ~ 25g, 雌雄兼用, 购于湖北省实验动物研究中心。

1.2 主要材料及试剂

火麻仁: 购自湖北药材公司, 经本校中药实验室鉴定为桑科植物大麻的成熟种子; 四氧嘧啶: sigma, 美国; 一氧化氮 (NO) 检测试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒、超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒、丙二醛 (MDA) 检测试剂盒: 南京建成生物工程研究所

1.3 主要仪器

752 紫外可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; 血糖检测仪, 德国罗氏诊断有限公司; 离心机, 上海手术器械厂; 电子天平, 上海恒平科学仪器有限公司; 恒温水浴锅, 金坛市双捷实验仪器厂; 一次性注射器、眼科镊、剪刀等。

1.4 实验方法

1.4.1 火麻仁醇提物制备

火麻仁碾碎, 75% 乙醇提取 6h, 提取三次, 减压回收得到流浸膏, 收集备用。

1.4.2 糖尿病小鼠模型建立

将小鼠禁食 12h (不禁水), 然后按 250mg/kg ip 2% 的四氧嘧啶溶液。3d 后, 禁食 12h, 尾尖采血, 测其血糖含量, 以空腹血糖大于 10.0mmol/L 者为糖尿病小鼠, 模型不成功者, 再次 ip 四氧嘧啶 300mg/kg, 三天后, 测其血糖含量, 以空腹血糖大于 10.0mmol/L 者为糖尿病小鼠。

1.4.3 分组及给药

将糖尿病小鼠随机进行分为 4 组, 每组 10 只, 并以同批次健康小鼠作为正常对照组, 共计 5 组, 即①正常对照组 (control): 正常小鼠; ②模型组 (model): 糖尿病小鼠; ③高剂量火麻仁处理组 (Semen Cannabis-30): 给药剂量为 30g/kg; ④中剂量火麻仁处理组 (Semen Cannabis-20): 给药剂量为 20g/kg; ⑤低剂量火麻仁处理组 (Semen Cannabis-10): 给药剂量为 10g/kg; 每天 i.g 给药一次, 正常组、模型组每天 i.g 给予生理盐水。

1.4.4 指标检测

连续喂养 20 天后, 禁食不禁水 12 h, 眼内眦取血测空腹血糖; 处死小鼠, 眼球取血, 收集血清, 按照试剂盒说明书操作, 配制各种检测溶液, 在相应波长处测定其吸光度并根据对应公式计算结果。

1.4.5 数据处理

各实验组数据以均数±标准差 (means±SD) 表示, 采用系统统计软件 SPSS11.5 进行方差齐性检验、单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间比较用 LSD 法; $P<0.05$ 为显著性差异。

2 结果

2.1 对糖尿病小鼠血糖的影响

火麻仁醇提物在给药 20 天后, 三个给药剂量组血糖明显低于 Modle 组 ($p<0.05$), 并与剂量呈相关性, 表明火麻仁醇提物对模型小鼠具有降血糖作用并呈现一定的剂量依赖性。

Table 1. Values are expressed as mean±SD, $n=6$.
^{ab} $p<0.05$, vs control group; ^a $p<0.05$, vs modle group.

组别	给药前 (mmol/L)	给药后 (mmol/L)
Control	5.4±0.4	5.8±0.3
Modle	18.5±2.2 ^{ab}	19.1±1.9 ^{ab}
SemenCannabis-30	19.2±4.5 ^a	12.9±1.6 ^a
SemenCannabis-20	18.6±2.3 ^a	14.4±1.7 ^a
SemenCannabis-10	18.9±2.9 ^a	14.6±3.2 ^a

2.2 对糖尿病小鼠 SOD 及 GSH-Px 活性的影响

火麻仁醇提物在给药 20 天后, Modle 组血清中的 SOD 及 GSH-PX 水平与 Control 组比较明显降低, 有显著差异 ($p<0.05$), 三个剂量药物组与 Modle 组比较 SOD 及 GSH-PX 水平明显升高, 有显著差异 ($p<0.05$)。以上结果表明火麻仁醇提物能增加抗氧化酶活性, 减轻氧化应激对机体的损害。

Table 2. Values are expressed as mean±SD, $n=6$.
$p<0.05$, vs Control group; ** $p<0.05$, vs modle group.

Group	SOD (U/L)	GSH-PX (umol/L)
Control	38.9±1.97	121.8±8.36
Modle	32.6±1.62 ^{##}	88.9±7.35 ^{##}
SemenCannabis-30	37.1±2.95 ^{**}	97.7±6.17 ^{**}
SemenCannabis-20	36.7±2.09 ^{**}	94.2±5.28 ^{**}
SemenCannabis-10	36.9±2.27 ^{**}	93.8±7.33 ^{**}

2.3 对糖尿病小鼠 NO 及 MDA 含量的影响

火麻仁醇提物在给药 20 天后, Modle 组与 Control 组比较, 血清中的 MDA 含量明显升高, NO 含量明显降低, 有显著差异 ($p<0.05$); 三个剂量药物组与 Modle 组比较, MDA 含量明显降低, NO 含量明显升高, 有显著差异 ($p<0.05$)。以上结果表明火麻仁醇提物具有抗脂质过氧化作用。

Table 3. Values are expressed as mean±SD, $n=6$.
$p<0.05$, vs Control group; ** $p<0.05$, vs modle group.

Group	NO (umol/L)	MDA (nmol/L)
Control	24.7±5.41	2.7±0.23
Modle	16.9±4.25 ^{##}	3.8±0.17 ^{##}
SemenCannabis-30	19.1±6.15 ^{**}	2.6±0.29 ^{**}
SemenCannabis-20	19.4±5.77 ^{**}	2.8±0.18 ^{**}
SemenCannabis-10	18.5±6.32 ^{**}	2.9±0.21 ^{**}

3 讨论

火麻是一种多用途的经济作物, 且分布广泛, 我国早在 3000 多年前就开始种植和加工火麻, 作为服装、纸张、绳索等的重要原料^[7], 火麻仁为火麻的干燥成熟种子, 除药用外

还是重要的油料作物, 亦可做保健应用^[8], 且其还是长寿之乡巴马主要长寿食品之一。火麻仁作为传统药物已显示出了广阔的开发应用价值, 火麻仁除了在神经性疾病、便秘、心血管疾病等方面具有医学前景, 还在食品、保健品以及化妆品方面有极大应用前景^[9]。火麻仁中一些寡肽表现出抑制葡萄糖苷酶的活性, 表明其有潜在的降血糖作用^[10]。本实验通过建立糖尿病小鼠模型, 首次探讨火麻仁醇提物对糖尿病小鼠的降血糖作用, 实验结果表明, 高、中、低三个剂量组的火麻仁醇提物都对糖尿病模型小鼠具有降血糖作用。

在高血糖状态下, 线粒体电子传递链过度激活, 葡萄糖及糖化蛋白发生自身氧化, 机体自身抗氧化能力失代偿, 自由基愈加增多; 而机体对高血糖诱导产生的过量氧自由基极为敏感, 从而导致机体内脂质过氧化链式反应, 引起自由基损伤的不断扩大, 体内高活性分子如活性氧自由基 (ROS) 和活性氮自由基 (RNS) 产生过多, 氧化程度超出氧化物的清除, 氧化系统和抗氧化系统失衡, 最终造成机体损伤^[11]。SOD 是生物体内重要的抗氧化酶, SOD 的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力, GSH-Px 是机体内重要的内源性抗氧化酶, 起到保护细胞膜结构和功能的完整性, 其活性高低是评价机体细胞内氧化应激的重要指标。MDA 是脂质过氧化产物, MDA 的高低又可间接反应机体细胞受自由基攻击严重程度。NO 在糖尿病患者中具有“双刃剑”的作用, 合成过多或过少对机体都有损伤作用, 而 NO 水平下降不仅使血管舒张异常, 而且其抗平滑肌增殖作用、抗血小板聚集作用也会减弱, 并会继发多种病变^[12]。高血糖情况下, NO 可以与超氧阴离子结合生成毒性更强的过氧亚硝酸根, 使脂质过氧化, 直接损伤细胞。而本实验结果表明, 在火麻仁醇提物的干预下, 糖尿病小鼠血清中 SOD, GSH-PX 活性增强, NO 含量明显增加, MDA 含量明显减少, 提示火麻仁对糖尿病小鼠的降糖作用可能是通过提高抗氧化酶系活性, 抗氧化应激, 减少脂质过氧化来实现的。

综上所述, 火麻仁醇提物对糖尿病小鼠具有降低血糖作用, 可能与其增强抗氧化酶活性, 抗氧化应激有关。而火麻仁具体起作用的成分以及对机体细胞的影响及药理机制, 有待进一步研究。随着研究深入, 可进一步提高火麻仁的开发应用前景, 突显传统药物价值。

参考文献

- [1] 何戈华. 黄豚类降糖药治疗失效研究进展. 国外医学·内分泌学分册, 1996; 15: 81
- [2] 中国药典编委会. 中国药典: 2010 年版一部 [s]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010, 31(9): 74.
- [3] 金贤兰. 火麻仁的药理作用与临床应用 [J]. 现代医药卫生, 2007, 23(17): 2624-2625.
- [4] 张朋发, 沈雅琴, 朱自平, 等. 火麻仁的镇痛、抗炎、抗血栓形成作用研究 [J]. 基层中药杂志, 1999, 13(1): 13-15.
- [5] Prociuk MA, Edel AL, Richard MN, et al. Cholesterol-induced stimulation of platelet aggregation is prevented by a hempseed-enriched diet [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2008, 86(4): 153-159.
- [6] 任汉阳, 孙红光, 张瑜, 等. 火麻仁油对鹤鹑的降脂及抗动脉粥样硬化作用 [J]. 河南中医, 1998, 18(5): 294.
- [7] 虞剑泉, 于修焯, 陈兴誉, 杜双奎. 火麻籽及其油的理化性质研究. 中国油脂, 2012, 37(4): 84-87.
- [8] 王化东, 卫莹芳, 郭山山, 闫婕, 金虹. 不同产地火麻仁的降血糖作用研究 [J]. 中国油脂, 2012, 37(4): 84-87.

(下转第 30 页)

表 4: 两组不良反应发生率比较 [n (%)]

组别	n	恶心呕吐	肌颤	躁动	血压异常	心率异常	总发生率
对照组	40	5 (12.50)	2 (5.00)	3 (7.50)	2 (5.00)	1 (2.50)	13 (32.50)
观察组	40	2 (5.00)	1 (2.50)	1 (2.50)	0 (0.00)	0 (0.00)	4 (10.00)

3 讨论

腹腔镜下胆囊切除术作为微创性手术的一种,是胆结石、胆囊炎等疾病的首选治疗方法^[4]。但在进行腹腔镜手术过程中,受体位变化、腹腔压力改变等因素的影响,患者的交感神经反射极易出现升高的情况,进而呈现出高动力循环的状况,最终导致患者出现心动过速、心肌收缩力升高或体循环血压上升等状况,对麻醉稳定性的影响较大^[5]。既往临床多在腹腔镜手术时给予患者丙泊酚微量泵静脉输注,虽能有效抑制中枢神经系统,进而起到镇静、催眠的效果,但同时也会抑制循环系统,不利于术后恢复^[6]。

随着麻醉药物的不断推陈出新,七氟烷逐渐在腹腔镜手术中广泛应用,该药属于吸入型麻醉药物,具有可调节麻醉深度的作用,进入人体后可稳定患者的麻醉效果。此外,该药物刺激性较小,不会对气管造成过大的损害,且起效速度较快,可在短时间内发挥出催眠的作用,使患者丧失意识,与丙泊酚复合麻醉可起到协同的作用,有助于进一步增加麻醉的深度,再加上这两种药物均不会对患者的循环系统造成过大的影响,可在一定程度上缩短患者的术后恢复时间。本文观察组与对照组比较,其术后恢复时间较短($P < 0.05$)。结果表明,采用七氟烷复合丙泊酚微量泵注,可促使患者恢复。丙泊酚作为一种副作用小的麻醉药物,在腹腔镜手术中十分常见,但在对患者开展腹腔镜手术时,若丙泊酚输注方法选择不当,受二氧化碳气体的影响极易出现剧烈疼痛的状况。微量泵注是静脉麻醉给药的改进方法之一,持续微量泵注能够维持药物的恒定浓度,避免大量用药影响患者的血流动力学。七氟烷是一种吸入性全麻药物,吸入后可有效降低患者的颅内压,同时还能控制麻醉的深度,复合丙泊酚应用可发挥出强效麻醉的效果,同时还能维持麻醉的稳定性,避免麻醉药物影响患者的血流动力学和血压。本次研究中,T1 时间

段观察组患者的血压水平和血流动力学水平平均比对照组低($P < 0.05$)。由此可见,利用七氟烷和丙泊酚微量泵注复合麻醉,可有效稳定患者的血流动力学。此次研究发现不良反应中,相较于对照组而言,观察组发生率明显更低($P < 0.05$)。提示七氟烷复合丙泊酚微量泵注安全性较高,可有效降低腹腔镜下胆囊切除术患者的不良反应发生率。主要是七氟烷进入人体后可帮助患者降低其颅内压,同时还能控制麻醉的深度,且该药安全性较高;而丙泊酚是一种短效且快速的麻醉药物,通过微量泵注的方式可避免药物在患者体内蓄积而引发不良反应,两种药物复合麻醉还能在一定程度上减少七氟烷的用药浓度,进而达到提高麻醉安全性的目的。

参考文献

- [1] 倪晓虎, 岳珍. BIS 监测下丙泊酚复合瑞芬太尼对腹腔镜胆囊切除术老年患者血流动力学的影响[J]. 新疆医学, 2020, 50(7):675-677.
- [2] 鲁金钢, 赵延涛, 赵鹏程. 丙泊酚在非酒精性脂肪肝患者全身麻醉中的输注剂量及其苏醒时间研究[J]. 浙江医学, 2020, 42(4):386-388, 392.
- [3] 李军仕, 赵飞飞, 王卫萍, 等. 腹腔镜胆囊切除术应用七氟烷预处理对中老年患者术后认知功能及谵妄的影响[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(8):980-982.
- [4] 乔奇. 瑞芬太尼复合丙泊酚用于腹腔镜胆囊切除术的麻醉效果分析[J]. 基层医学论坛, 2021, 25(11):1627-1628.
- [5] Aribawa I, Senapathi T, Widnyana I G, et al. Comparison between target-controlled infusion propofol and target-controlled inhalational anesthesia sevoflurane in mastectomy surgery in Indonesia[J]. Bali Journal of Anesthesiology, 2021, 5(2):61.
- [6] 陈显宇, 何川. 右美托咪定联合丙泊酚麻醉对腹腔镜胆囊切除术患者镇痛效果研究[J]. 实用肝脏病杂志, 2020, 23(3):443-446.

(上接第 27 页)

麻仁品质评价. 湖北农业科学, 2012, 51(17):3782-3785.

[9] 张际庆, 夏从龙, 段宝忠, 董林林. 火麻仁的药理作用研究进展及开发应用策略[J]. 世界科学技术-中医药现代化 ★专题讨论二: 中药研究, 2021, 23(3):750-757.

[10] Opyd P M, Jurgoński A, Fotschki B, et al. Dietary hemp seeds more effectively attenuate disorders in genetically obese rats

than their lipid fraction. J Nutr, 2020, 150(6):1425-1433.

[11] Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara Y. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases[J]. Circ J, 2009, 73(3):411-418.

[12] Guzik TJ, Korbut R, Adam EK. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation[J]. Jphysiol pharmacol, 2003, 54(4):469-487.

(上接第 28 页)

环动脉端时,其可迅速同血浆中的钙离子相融合,进而实现抗凝的功效。对此,枸橼酸抗凝时需静脉输入氯化钙,对血液中丢失的钙离子予以有效补充。同时,枸橼酸对人体凝血系统的影响不大,可对透析管路的生物相容性予以强化,有效抑制炎症反应的出现。另外,相关研究^[4]指出,作为抗凝药物,枸橼酸运用于血液透析过程中,可抑制出血的风险,并延长滤器的使用时间。本研究结果表明,观察组抗凝效果、超滤量、治疗周期均优于对照组($P < 0.05$),这证实了在血液透析过程中运用枸橼酸钠进行抗凝治疗,可确保血液透析顺利进行,提高治疗的安全性及效果,值得广泛推广运用。

参考文献

- [1] 许明杰, 洪大情, 王莉. 局部枸橼酸钠抗凝在普通血液透析中的应用进展[J]. 实用医院临床杂志, 2020, 17(03):251-255.
- [2] 张欲荣. 无肝素透析和枸橼酸钠抗凝在高危出血患者血液透析中的临床应用[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(06):62.
- [3] 杨艳艳, 贾利宁, 王引红, 李侠, 杨利红, 姚钢炼. 4% 枸橼酸钠与低分子肝素钠抗凝在血液透析中的临床应用研究[J]. 陕西医学杂志, 2019, 48(09):1220-1222.
- [4] 刘司南, 陈林, 曹晓翼. 局部枸橼酸和无肝素两种抗凝方法在高危出血倾向血液透析中的应用[J]. 华西医学, 2019, 34(08):928-932.